

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2002-502588

(P2002-502588A)

(43)公表日 平成14年1月29日(2002.1.29)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テ-マ-ト~(参考)

C 1 2 N 15/09

C 0 7 K 1/04

3 E 0 3 8

C 0 7 K 1/04

C 1 2 M 1/00

A 4 B 0 2 4

C 1 2 M 1/00

G 0 7 C 3/14

4 B 0 2 9

G 0 7 C 3/14

C 1 2 N 15/00

F 4 H 0 4 5

A

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 33 頁)

(21)出願番号 特願2000-530300(P2000-530300)
 (86)(22)出願日 平成11年2月5日(1999.2.5)
 (85)翻訳文提出日 平成12年8月7日(2000.8.7)
 (86)国際出願番号 PCT/US99/02518
 (87)国際公開番号 WO99/39817
 (87)国際公開日 平成11年8月12日(1999.8.12)
 (31)優先権主張番号 09/019, 882
 (32)優先日 平成10年2月6日(1998.2.6)
 (33)優先権主張国 米国 (US)

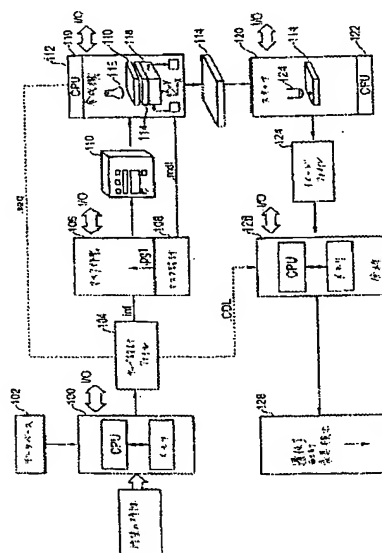
(71)出願人 アフィメトリックス インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州
 95051 サンタ クララ セントラル エ
 クスプレスウェイ 3380
 (72)発明者 ラバ, リチャード
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94062,
 レッドウッド シティ, レイクビュー
 338
 (74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 製造プロセスにおける品質管理の方法

(57)【要約】

物を並行して製造する方法。製造されるべき物の選択されたサンプルが、製造プロセスにおけるさらなる工程に供される。そのようなサンプル物が必要な品質管理標準を満たす場合、残りの物は、さらなる製造工程に供される。さらにプロセスされたサンプル物が必要な品質管理標準を満たさない場合、そのサンプルが由来するロットは、さらなる製造工程を受けない。本発明は、それが不必要な製造工程を回避するという点で改良された製造方法を提供する。例えば、製造物は、ウェハ上のチップであり得る。この例におけるさらなるプロセス工程はそのチップのパッケージング工程からなり得る。このチップは、DNA、RNA、アミノ酸またはそれらのアナログから構成される生物学的チップであり得る。請求される本発明は、基板上に複数の核酸アレイを作製すること、そのアレイを分離すること、そのアレイの選択されたサンプルをパッケージングすること、選択したサンプルを試験すること、およびその選択したアレイのサンプルが試験工程を通過した場合に残りのアレイをパッケージングすることにより、核酸のアレイを製造するための方法



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 並行して複数の物を製造するための方法であって、以下の工程：
プロセスを受けている複数のものから、製造された物のサンプルを選択する工程；
該サンプルをさらなるプロセスに供する工程；
該選択されたサンプルの品質を同定する工程；および
該品質が満足いくものであると決定した場合、該製造された物を該さらなるプロセス工程に供する工程、
を包含する、方法。

【請求項2】 製造されるべき前記複数の物がウェハ上のチップである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記チップが生物学的材料を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】 前記生物学的材料がDNA、RNA、アミノ酸またはそれらのアナログからなる群より選択される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】 前記さらなるプロセス工程が前記チップのパッケージング工程である、請求項2に記載の方法。

【請求項6】 核酸のアレイを製造する方法であって、以下の工程：
複数の二連の核酸アレイを基板上で作製する工程；
該複数のアレイを分離する工程；
該アレイのうち選択されたものをパッケージングする工程；
該選択されたアレイを試験する工程；および
該選択されたアレイが該試験工程を通過した場合、該複数のアレイの残りをパッケージングする工程、
を包含する、方法。

【請求項7】 前記アレイが光誘導合成によって製造される、請求項6に記載の方法。

【請求項8】 前記アレイが核酸スポットティングによって製造される、請求項6に記載の方法。

1つの該基板を廃棄する工程、
を包含する、請求項16に記載の方法。

【請求項18】 さらに、以下の工程：
前記分離工程の後、前記アレイの上で第三の試験を実施する工程；および
該アレイが該第三の試験に不合格である場合、該アレイを廃棄する工程、
を包含する、請求項17に記載の方法。

【請求項19】 さらに、以下の工程：
前記パッケージング工程の後、前記分離したアレイ上で第五の試験を実施する工程；および
該アレイが第五の試験に不合格である場合、該アレイを廃棄する工程、
を包含する、請求項18に記載の方法。

【請求項20】 さらに、以下の工程：
前記試験工程の後、前記パッケージングされたアレイの上で第六の試験を実施する工程；および
該アレイが第六の試験に不合格である場合、該アレイを廃棄する工程、
を包含する、請求項19に記載の方法。

【請求項21】 生物学的材料のアレイを製造する方法であって、以下の工程：
複数の基板を調製する工程；
該複数の基板を試験する工程；
少なくとも1つの該基板の上で生物学的材料のアレイを作製する工程；
該少なくとも1つの基板上で形成された該アレイを分離する工程；
該分離されたアレイのなかから選択したものをパッケージングする工程、
を包含し、ここで、該作製工程、分離工程およびパッケージング工程は、該基板が該試験工程を通過した場合にのみ実行される、方法。

【請求項22】 生物学的材料のアレイを製造する方法であって、以下の工程：
複数の基板を調製する工程；
少なくとも1つの該基板の上で生物学的材料のアレイを作製する工程；

【請求項9】 前記アレイがインクジェット合成によって作製される、請求項6に記載の方法。

【請求項10】 前記アレイが鋸引きによって分離される、請求項6に記載の方法。

【請求項11】 前記アレイがけがきによって分離される、請求項6に記載の方法。

【請求項12】 前記アレイがけがきによって分離される、請求項6に記載の方法。

【請求項13】 前記製造されるべき複数の物がアレイ上でのチップ合成のための基板である、請求項1に記載の方法。

【請求項14】 前記さらなるプロセス工程が基板の切断および調製である、請求項13に記載の方法。

【請求項15】 生物学的材料のアレイを製造する方法であって、以下の工程：
複数の基板を調製する工程；

該基板の少なくとも1つの上で生物学的材料のアレイを作製する工程；
該少なくとも1つの基板上に形成された該アレイを分離する工程；
該分離されたアレイのなかの選択したものをパッケージングする工程；および
該パッケージングしたアレイを試験する工程、
を包含する、方法。

【請求項16】 さらに、以下の工程：
前記調製工程の後、前記基板のサンプル上で第一の試験を実行する工程；および
該サンプルが該第一の試験工程に不合格である場合、該基板を廃棄する工程、
を包含する、請求項15に記載の方法。

【請求項17】 さらに、以下の工程：
前記製造工程の後、少なくとも1つの前記基板の上で第二の試験を実施する工程；および
該少なくとも1つの該基板が該第二の試験に不合格である場合、該少なくとも

該作製された生物学的材料のアレイを試験する工程；
該少なくとも1つの基板上で形成された該アレイを分離する工程；
該分離されたアレイの選択されたものをパッケージングする工程、
を包含し、ここで、該分離工程およびパッケージング工程は、該作製されたアレイが該試験工程を通過した場合にのみ実施される、方法。

【請求項23】 生物学的材料のアレイを製造する方法であって、以下の工程：

複数の基板を調製する工程；
少なくとも1つの該基板の上で生物学的材料のアレイを作製する工程；
該少なくとも1つの基板上で形成された該アレイを分離する工程；
該分離されたアレイを試験する工程；
該分離されたアレイのうち選択したものをパッケージングする工程、
を包含し、ここで、該パッケージング工程は、該分離されたアレイが該試験工程を通過した場合にのみ実施される、方法。

【請求項24】 生物学的材料のアレイを製造する方法であって、以下の工程：

複数の基板の上で表面を調製する工程；
該基板表面上にキシレンを沈着させる工程；
該基板のサンプルを試験する工程；および
該サンプルが該試験工程に不合格である場合、該基板を破棄する工程、
を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の背景)

並行シナリオにおける殆どの製造工程において、製造されるべき物 (item) は、完成製品を得るためには、多数のプロセス工程を経なければならない。並行して多量に物を製造すると、製造された物の代表的グループが、そのロット全てが適切な標準に合格することを保証するために、品質管理試験をへることが必要となる。代表的には、製造されるべき物の品質管理試験は、製造する物が完了した時点で実施される。物の代表サンプルが必要とされる標準に不合格である場合、同様の欠陥を有すると予測されるサンプルとともにプロセスされた全ての物は不合格とされる。その製品の完成の前に、いくつかの工程を生じるプロセスのために不合格となる原因が存在する場合、さらなるプロセスは、不必要に、時間および金銭の多大な出費において実施されていた。

【0002】

RNAまたはDNAのような生物学的材料のアレイを製造する際に、不必要な工程の実施を回避することが所望される。図1は、RNAまたはDNAのような生物学的材料のアレイを形成し、そして分析するためのコンピュータ化したシステムを示す。コンピュータ100を使用して、RNAまたはDNAのような生物学的ポリマーのアレイを設計する。このコンピュータ100は、例えば、適切にプログラミングされたSunワークステーションまたは、IBM PC互換機のようなパソコンもしくはワークステーションであり得、これは、適切なメモリおよびCPUを備える。このコンピュータシステム100は、目的の遺伝子の所望の特性についてユーザからの入力およびそのアレイの所望の特性についての他の入力を得る。必要に応じて、このコンピュータシステムは、GenBankのような外部または内部データベース102から目的の特定の遺伝子配列に関する情報を入手し得る。このコンピュータシステム100の出力は、例えば、PCT出願WO92/10092に記載されるようなスイッチマトリクスの形式での、1組のチップ設計コンピュータファイル104および他の関連するコンピュータファイルである。

ステリスクで示される)、そしてスキャンシステム120に配置される。スキャンシステム120は再び、適切にプログラミングされたデジタルコンピュータ122の制御下で作動し、このコンピュータはまた、合成、マスク作製およびマスク設計において使用されたコンピュータと同一のコンピュータであってもよく、そうでなくてもよい。スキャナ120は、共焦点顕微鏡またはCCD (電荷結合素子) のような検出デバイス124を備え、これを使用して、標識されたレセプタ (*) がその基板のどこに結合したかを検出する。スキャナ120の出力は、イメージファイル124であり、これは、フルオレセイン標識レセプタの場合は、蛍光強度 (光子計数または電位のような他の関連する測定値) をその基板上の位置の関数として示す。より高い光子計数は、標識されたレセプタがポリマーのアレイにより強く結合したところで観察されるので、そしてその基板上のポリマーのモノマー配列が位置の関数として既知であることから、そのレセプタに相補的である基板上のポリマーの配列を決定することが可能となる。

【0006】

イメージファイル124は、分析システム126に対する入力として提供される。再び、この分析システムは、広範な種々のコンピュータシステムのいずれか1つであり得るが、好ましい実施態様において、分析システムは、Sunワークステーションまたは互換機に基づく。チップ設計ファイルおよびイメージファイルから得た分子の配列に関する情報を用いて、この分析システムは、1以上の種々のタスクを実行する。1つの実施態様において、この分析システムは、目的のレセプタによって生成された蛍光パターンと、「野生」型レセプタから予測されるパターンとを比較し、それにより、適切な出力128を提供される。蛍光のパターンが野生型レセプタのもの (限界内で) 適合した場合、目的のレセプタはその野生型レセプタのものと同一であると推定される。蛍光のパターンがその野生型のレセプタと有意に相違する場合、そのレセプタは、野生型レセプタではないと推定される。このシステムをさらに使用して、DNAまたはRNAのようなレセプタにおける特定の変異を同定し得、そしていくつかの実施態様において、特定のレセプタの全てまたは部分を全く新しく、配列決定し得る。

【0007】

【0003】

このチップ設計ファイルがシステム106に提供され、そのシステム106は、DNAのような分子のアレイの作製において使用されるリソグラフィマスクを設計する。このシステムまたはプロセス106は、マスク110を製造するために必要なハードウェア、ならびに効率よい様式でそのマスク上にマスクパターンを配置するために必要なコンピュータハードウェアおよびソフトウェア108もまた備え得る。図1における他の特性と同様に、そのような装置は、同様の物理的部に配置されてもよく配置されなくてもよいが、図1における図示の容易のために共に示す。システム106は、ポリマーアレイの作製において使用するためにクロムオングラスのようなマスク110を生成する。

【0004】

このマスク110、ならびにシステム100からのチップの設計に関する選択された情報は、合成システム112において使用される。合成システム112は、基板またはチップ114におけるポリマーのアレイを作成するのに使用される必要なハードウェアおよびソフトウェアを備える。例えば、合成機112は、光源116および化学物質フローセル118を備え、その上にその基板またはチップ114が配置される。マスク110は、その光源とその基板/チップとの間に配置され、そしてその2つは、そのチップの選択された領域の脱保護のために適切な時間にて互いに相対的に平行移動される。選択された化学試薬は、フローセル118を通して、脱保護領域への結合、ならびに洗浄および他の操作のために指向される。すべての操作は、好ましくは、適切にプログラミングされたデジタルコンピュータ119によって制御されており、このコンピュータは、マスク設計およびマスク作製において使用されたコンピュータと同一のコンピュータであってもよく、そうでなくてもよい。

【0005】

合成システム112によって作製された基板は、必要に応じて、より小さなチップに分割され、そしてマークされたレセプタに曝露される。このレセプタは、その基板上の1以上の分子に相補的であってもよく、相補的でなくてもよい。そのレセプタは、フルオレセイン標識のような標識でマークされ (図1においてア

図2Aは、本発明の1つの実施態様の操作において使用されるソフトウェアシステムの単純化した例を提供する。図2Aにおいて示されるように、このシステムは、まず、工程202における特定の分析に関連する遺伝子配列決定機を同定する。目的の配列は、例えば、遺伝子の正常または変異の部分、遺伝を同定する遺伝子、法医学的情報を提供する遺伝子などであり得る。配列の選択は、テキストファイルの手動入力を介して提供され得るか、またはGenBankのような外部供給源由来であり得る。工程204において、このシステムは、その遺伝子を評価して、どのプローブがそのチップ上で望ましいかを決定するか、または決定する際にユーザを補助し、そしてそのプローブについてそのチップ上の適切な「レイアウト」を提供する。このレイアウトは、線効果の最小化、合成の容易、および/または遺伝子配列の「読み取り」を可能にするチップの構成のような所望の特性を実現する。

【0008】

工程206では、合成のためのマスクが設計される。ここで再び、そのマスクは、1つ以上の所望の属性を実行するように設計される。例えば、このマスクは、必要とされるマスクの数を減じ、そのマスク上で「開かれ」なければならないピクセル数を減じ、そして/またはそのマスクの合成において必要とされる曝露数を減じ、それによって費用を実質的に減ずるように設計され得る。

【0009】

工程208において、このソフトウェアは、マスク設計およびレイアウト情報を利用してDNAチップまたは他のポリマーチップを作製する。このソフトウェア208は、とりわけ、基板およびマスクの相対的な平行移動、フローセルを介した所望の試薬の流れ、フローセルの合成温度および他のパラメータを制御する。工程210において、ソフトウェアの別の部分は、このように合成され、そして標識されたレセプタに曝露されるチップをスキャンする際に使用される。

【0010】

このソフトウェアは、チップのスキャンを制御し、そして配列情報を抽出するために後に利用され得るファイルにおいてこのように得られるデータを格納する。

【0011】

工程212において、このソフトウェアシステムは、レイアウト情報および蛍光情報を利用して、そのチップを評価する。DNAチップから得られた情報の重要な部分には、変異レセプターの同定、および特定のレセプターの遺伝子配列の決定がある。

【0012】

図2Bは、DNAプローブ114のアレイへの特定の標的DNAの結合を示す。

【0013】

この単純な例において示されるように、以下のプローブがそのアレイにおいて形成される：

3' - AGAACGT
AGAACGA
AGAACGG
AGAACGC、...

【0014】

配列5' - TCTTGCAを有する蛍光標識（または他のマークされた）標的がそのアレイに曝露される場合、これは、プローブ3' - AGAACGTのみに対して相補的であり、フルオレセインはその基板の表面上に見出され、そこで、3' - AGAACGTが位置付けられる。対照的に、5' - TCTTGCTがそのアレイに曝露される場合、これは、3' - AGAACGAのみ（または最も強力に）結合する。標的がプローブのアレイに最も強力にハイブリダイズ位置を同定することによって、本発明に使用するアレイからの配列情報を抽出することが可能となる。

【0015】

VLSIPS（登録商標）と呼ばれる新しい技術は、10万以上もの異なる分子プローブを含む、親指の爪よりも小さなチップの生産を可能にした。これらの技術は、米国特許第5,143,854号、PCT WO 92/10092およびPCT WO 90/15070に記載され、これらは本明細書において参考としてそれらの開示するものの全体が援用される。生物学的チップは、ア

質を決定するため、およびそれらの製造についての最適条件を同定するための両方のための品質管理標準の適用を必要とする。品質管理は当然、チップの製造には限定されず、それらが貯蔵、輸送、および剪切的には使用される条件にも適用される。

【0020】

米国特許第5,384,261号は、基板上の大きなポリマーアレイを形成するための方法およびデバイスに関し、そして本明細書において参考としてそれが開示する内容全体が援用される。本発明の好ましい局面に従って、その基板は、チャンネルを内蔵したチャンネルブロックと接触する。選択された試薬は、そのチャンネルを流れて、その基板は、回転ステージによって回転し、そしてそのプロセスを反復して、基板上のポリマーのアレイを形成する。この方法は、光誘導方法論と組み合わせられ得る。

【0021】

より詳細には、米国特許第5,384,261号は、多様なポリマー配列のアレイを合成するための方法およびシステムを記載する。本発明の特定の局面に従って、ペプチドまたはオリゴヌクレオチドのような多様なポリマー配列を合成する方法が提供される。多様なポリマー配列が、例えば、結合親和性の決定のためのスクリーニング研究において使用され得る。

【0022】

ペプチド配列のような所望のポリマー配列を合成する方法は当業者に周知である。例えば、いわゆる「Merrifield」固相ペプチド合成は永年慣用されており、そしてMerrifield, J. Am. Chem. Soc. (1963) 85:2149-2154に記載されており、これは、全ての

目的のために本明細書において参考として援用される。固相ペプチド合成技術を拡張して、例えば、Geysen et. al., J. Immun. Meth. (1987) 102:259-274（これは、全ての目的のために本明細書において参考として援用される）に記載されるような多数の「ピン」上におけるいくつかのペプチド配列の合成が提供されている。オリゴヌクレオチドの合成方法は、例えば、Oligonucleotide Synthesi

イ中に配置されたプローブを有し、各プローブの全体に、特定の位置が割り当てられている。生物学的チップは、各位置が例えば10μmのスケールを有するように生産される。

【0016】

このチップは、標的分子がそのチップ上のプローブのいずれかと相互作用するか否かを決定するために使用され得る。選択された試験条件下でそのアレイを標的分子に曝露した後、スキャンデバイスは、アレイ中における各位置を試験し得、そして標的分子がその位置においてそのプローブと相互作用したか否かを決定し得る。

【0017】

生物学的チップは、プローブまたは標的分子のいずれかについての情報を得るための種々のスクリーニング技術において有用である。例えば、ペプチドのライブラリは、薬物についてスクリーニングするためのプローブとして使用され得る。このペプチドは、レセプタに曝露され得、そしてそのレセプタに結合したそれらのプローブが同定され得る。

【0018】

そのプローブがオリゴヌクレオチドである生物学的チップ（「オリゴヌクレオチドアレイ」）は、特に有望性を示している。核酸プローブのアレイを使用して、核酸サンプルからの配列情報を抽出し得る。そのサンプルは、ハイブリダイゼーションを可能にする条件下でそのプローブに曝露される。次いで、そのアレイをスキャンして、どのプローブにそのサンプル分子がハイブリダイズしたかを決定する。そのアレイ上の特定の配列を用いたそのプローブの選択的タイラ分け、ならびにハイブリダイゼーションおよび非ハイブリダイゼーションのパターンを比較するアルゴリズムを用いることによって配列情報を得ることができ。この方法は、核酸を配列決定するために有用である。これはまた、遺伝疾患または特定の病原体もしくは病原体株の存在についての診断スクリーニングにおいて有用である。

【0019】

オリゴヌクレオチドアレイの製造規模拡大は、現在の製造条件下でチップの品

s: A Practical Approach, Gait, ed., IRL Press, Oxford (1984)に見出され、これは、全ての目的のためにその全体が本明細書において参考として援用される。

【0023】

このような方法およびデバイスは、合理的な長さの時間内に合成され得る配列の数に限定されることが続いている。例えば、Geysenらは、20万のペプチド配列を合成するのにおよそ3年かかっていると上記の雑誌中で報告している。このような方法は、しばしば研究のために所望されるよりも少ないペプチド配列を産生するということが続いている。

【0024】

基板上に配列を形成する技術は公知である。例えば、その配列は、米国特許第5,143,854号（Pirrunga）、PCT WO 92/10092、または米国特許出願第08/249,188（1994年5月24日出願）（これらは、全ての目的のために本明細書において参考として援用される）において開示されるバイオニア技術に従って形成され得る。調製された基板は、広範な種々の適用を有する。例えば、その基板は、異なる材料の間の構造活性相関の理解のため、または未知の材料の配列決定のために使用され得る。そのような未知の材料の配列は、例えば、ハイブリダイゼーションによる配列決定のよう公知のプロセスによって決定され得る。ハイブリダイゼーションによる配列決定の1つの方法において、多様な材料の配列は、基板表面上の公知の位置において形成される。配列決定されるべき1以上の標的を含む溶液は、その基板の表面に適用される。その標的は、その基板上の相補的配列のみと結合またはハイブリダイズする。

【0025】

ハイブリダイゼーションが生じる位置は、蛍光色素、放射性同位体、酵素、または他のマーカーで標的を標識することによって適切な検出システムを用いて検出され得る。例示的なシステムは、米国特許第5,143,854号（Pirrunga）および米国特許出願第08/143,312号に記載されており、これらもまた、全ての目的のために本明細書において参考として援用される。

標的配列に関する情報は、そのような検出システムによって得られるデータから抽出され得る。

【0026】

写真平板および製造技術のような種々の利用可能な技術を組み合わせることによって、基板上での種々の材料の作製および配置において実質的な進歩が見られている。例えば、何千もの異なる配列が、従来技術によって必要とされる時間のほんのわずかな部分のみで約1.28cm²の単一基板上に作製され得る。このような改良によって、これらの基質が、生物医学的研究、臨床診断、および他の産業市場、ならびに遺伝子配列とヒトの生理学とのあいだの関係を決定することに焦点を当てた、新しい分野であるゲノム学のような種々の適用において使用することについて実用的となった。このような基板の商用化が広く普及するにつれ、その基板をパッケージングするための経済的に実行可能でそして高処理能力のデバイスおよび方法が所望される。

【0027】

上記に記載のように、その基板は、より小さなチップへと分割され得、そしてパッケージングされ得る。その上に作製されたプローブのアレイを有する基板について経済的かつ効率よいパッケージングデバイスが開発されている。このプローブアレイは、米国特許第5,143,854 (Pirrungら)、PCT WO 92/10092または米国特許出願08/249,188号(1994年5月24日出願)に開示されたバイオニア技術に従って作製される。これらの文献はすでに、全ての目的のために、本明細書において参考として援用されている。そこに記載された技術の1つの局面に従って、複数のプローブアレイを、大きな基板またはウェハ上の既知の位置に固定した。

【0028】

代表的なウェハは、多数のプローブアレイで占有され得る。このウェハは、広範な材料から構成され得、それは、生物学的、非生物学的、有機的、無機的、またはこれらの任意の組み合わせのいずれかであり、粒子、鎮、沈殿物、ゲル、シート、チューブ、球体、容器、キャピラリー、パッド、スライス、フィルム、プレート、スライドなどとして存在する。このウェハは、ディスク、正方形、球体、

上記のように、チップは、そのウェハから分離され得る。例えば、チップは、プローブアレイおよび複数の整列マークを含み得る。そのマークは、多重機能を果たす。例えば、1) そのプローブアレイを作製するためにそのマークを整列すること、2) そのウェハをチップへと分割するためのけがきを整列すること、3) 接着プロセスの間にそのパッケージに対してそのチップを整列すること。いくつかの実施態様において、そのようなチップは、Very Large Scale Immobilized Polymer Synthesis (VLSIPS™) チップとして公知の型のものであり得る。

【0032】

特定の実施態様に従って、そのチップは、多様なRNAまたはDNAプローブのアレイのような遺伝子プローブのアレイを含む。いくつかの実施態様において、そのプローブアレイは、遺伝的傾向、特性または疾患を検出または研究するように設計される。例えば、そのプローブアレイは、すでに参考として援用している米国特許出願第08/143,312号に開示されるように、嚙胎性線維症または特定のガン(例えば、いくつかのガンに関連するp53遺伝子)のような遺伝疾患を検出または同定するように設計され得る。

【0033】

このウェハは、けがきおよびブレイクとして知られる技術を用いて複数のチップへと分割される。完全にプログラム可能なコンピュータを使用して、そのデバイスのけがきおよびブレイクを制御し得る。これは、いくつかの実施態様において、Dynatex International (登録商標)によって製造されるDX-III Scribe ブレーカであり得る。このデバイスは、回転ステージを伴う土台を備え、その上に、ウェハがマウントされる。この回転ステージは、その上にそのウェハを固定するための真空チャックを備える。このシステムによってコントロールされるステップモータは、ステージを回転する。そのステージの上方には、ヘッドユニットが配置され、これは、カメラとカッターを備える。ヘッドユニットは、二重軸フレーム上にマウントされる。このカメラは、ビデオディスプレイ上にそのウェハのイメージを生成する。そのビデオディスプレイは、十字線整列マークを備える。ズームレンズおよび光ファイバー光を備

円などのような任意の簡便な形状を有し得る。ウェハは、好ましくは平坦であるが、種々の別の表面構成をとり得る。例えば、ウェハは、サンプルが配置される、上昇または下降した領域を含み得る。このウェハおよびその表面は、好ましくは、強固な支持体を形成し、その上には、そのサンプルが形成され得る。このウェハおよびその表面はまた、適切な光吸収特性を提供するように選択される。例えば、このウェハは、重合Langmuir Blodgettフィルム、官能化ガラス、Si、Ge、GaAs、GaP、SiO₂、SiN_x、改変シリコン、または広範な種々のゲルのいずれか、あるいはポリテトラフルオロエチレン、ポリビニリデンジフルオリド、ポリスチレン、ポリカーボネートまたはそれらの組み合わせのようなポリマーのいずれかが1つであり得る。このウェハを構成することができ他の材料は、この開示を参照すれば当業者に容易である。好ましい実施態様において、このウェハは、平坦ガラスまたは単結晶シリコンである。

【0029】

固体ウェハの表面は通常(ただし、常にそうであるとは限らないが)、そのウェハと同一の材料から構成される。従って、その表面は、種々の材料のいずれか一つ、例えば、ポリマー、プラスチック、樹脂、ポリサッカライド、シリカまたはシリカベースの材料、炭素、金属、無機ガラス、膜あるいは上記ウェハ材料のいずれかから構成され得る。

【0030】

このウェハは、ストリート(プローブアレイに近接する領域)に位置する複数のマークを含む。このようなマークは、プローブ作製プロセスの間にマスクを整列するために使用され得る。実際、そのマークは、各アレイが作製されるべき位置を同定する。このプローブアレイは、任意の幾何的形狀で形成され得る。いくつかの実施態様において、そのアレイの形状は、無駄なウェハ面積を最小化するために正方形であり得る。そのプローブアレイが作製された後、そのウェハは、チップとして公知のより小さなユニットへと分割される。例えば、このウェハは、約5×5インチであり得、この上で各々約12.8cm²の面積を占有する16のプローブアレイが作製される。

【0031】

えるカメラによって、ユーザは、そのビデオディスプレイ上のそのウェハを検査することが可能である。コントロールパネルは、デバイスを操作するためのその土台上に配置される。

【0034】

一旦そのカッターが整列されると、そのユーザは、そのウェハをけがくようにそのデバイスに指令を出す。いくつかの実施態様において、けがき角、けがき圧力、およびけがき深度のような種々の選択肢がそのユーザに利用可能である。これらのパラメータは、そのウェハの組成および/または厚さに依存して変動する。好ましくは、そのパラメータは、それに損傷を何ら与えることもそのフレームを貫通することなくそのウェハをけがきかつブレイクするように設定される。そのデバイスは、1つの軸におけるすべてのストリートがけがかれるまでそのウェハを反復してけがく。これは、1つの実施態様において、5回繰り返される(4×4マトリクスのプローブアレイ)。次いで、そのユーザは、ステージを90°回転して垂直なストリートをけがく。

【0035】

一旦そのウェハがけがかれると、そのユーザは、そのウェハがチップへとブレイクまたは分割されるようにそのデバイスに指示を出す。衝撃棒からのショックは、そのウェハをそのけがきに沿って破壊する。殆どの力がそのけがきによって散逸するので、デバイス200は、そのウェハ上にそれほど力を及ぼすことなく高いブレイク力を生成し得る。従って、そのチップは、そのウェハに対して何ら損傷を発生させることなく分離される。一旦分離されると、次いでチップはパッケージングされる。当然、全ての目的のために本明細書において参考として援用される米国特許第4,016,855号に開示された鋸引き技術のような他のより従来の技術も使用され得る。

【0036】

種々の異なる型のポリマーを合成するための方法は当該分野において周知である。例えば、全ての目的のために本明細書において参考として援用されるAtherton et al., 「Solid Phase Peptide Synthesis」 IRL Press, 1989に記載の「Merri-

ield」法は、固体支持体においてペプチドを合成するために使用されている。Merri field法においては、アミノ酸は、不溶性ポリマーまたは他の材料からできた支持体に対して共有結合されている。α保護基を有する別のアミノ酸を、共有結合したアミノ酸と反応させてジペプチドを形成する。洗浄後、その保護基を除去、そしてα保護基を有する第三のアミノ酸をそのジペプチドに付加する。このプロセスは、所望の長さおよび配列のペプチドが得られるまで継続される。

【0037】

固体基板においてポリマー配列の大きなアレイを産生するための方法もまた開発されている。ポリマー配列のこれらの大きな「アレイ」は、広範な適用を有し、そして製薬産業、バイオテクノロジー産業および医療産業においてかなり重要である。例えば、このアレイを、生物学的活性（すなわち、レセプター結合能力）について多数の分子をスクリーニングする際に使用され得る。あるいは、オリゴヌクレオチドプローブのアレイが、公知の配列における変異を同定すること、および標的核酸のデノボ配列決定のための方法において使用され得る。

【0038】

特に興味深いのは、米国特許第5,143,854 (Pirrunga) に記載のバイオニアの研究であり、そしてPCT出願第92/10092号は光誘導性技術を使用した分子合成の方法の改良を開示する。これらの方法に従って、光は、基板の選択された領域に指向されて、その基板のその選択された領域から保護基を除去する。その後、選択された分子をその基板に結合させ、その後、さらなる照射および結合工程を行う。その基板の選択した領域を活性化することおよび選択したモノマーを正確な順番で結合することによって、任意の数の異なる配列を有する分子のアレイを合成し得、ここで、各異なる配列は、その基板の表面上の別個の既知の位置に存在する。

【0039】

これらのアレイは、明らかにポリマー分子一般および特にポリペプチドおよびオリゴヌクレオチドの固相合成の次の段階を具現化する。従って、これらのアレイの調製のための方法を提供することが所望される。この方法は、高処理能力、

クレオチド合成のために活性部位を有するリンカーを表面を有する基板に提供すること；空間的に指向されるオリゴヌクレオチド合成により基板上で配列特異的なオリゴヌクレオチドの全体を合成すること、ここで、そのオリゴヌクレオチドは必要に応じて検出可能な標識を付着するための活性部位を有する；その試験条件にその領域を曝露すること；ならびにその構造特性を有するオリゴヌクレオチドの量を決定すること、によって決定することを包含する。

【0042】

(発明の要旨)

本発明によって、物の完成前の時点またはさらに高価なプロセス工程が必要である時点で、並行して製造された物の品質管理試験を実施することが可能になる。その製品のサンプルのみが品質管理試験のためにプロセスされて完成される。その完成した製品がこの時点で不合格であった場合、他の完成していない製品についてさらなるプロセス工程を実施するための時間、努力および費用が回避される。さらにプロセスされるべき物が関連する品質管理標準を満たさなかった場合、さらなるプロセス工程は、その物がそれまでのところ必要とされる標準を満たすとの予測で完成され得る。結果として、本発明によって、資源のより有効な利用が可能となる。

【0043】

本発明は、プロセスを受けた複数の物から製造される物のサンプルをまず選択すること、およびこのサンプルをさらなるプロセス工程に供することによる複数の物を並行して製造するための方法を提供する。選択されたサンプルの品質は、引き続き決定され、そして満足行くものであった場合、その物の残りがさらなるプロセス工程に供される。開示される本発明において製造される物は、例えば、ウェハ上のチップであり得る。この例におけるさらなるプロセス工程は、チップのパッケージングからなり得る。このチップは、DNA、RNA、アミノ酸またはそれらのアナログから構成される生物学的チップであり得る。本発明は、基板上に複数の核酸アレイを作製すること、そのアレイを分離すること、そのアレイの選択されたサンプルをパッケージングすること、その選択されたサンプルを試験すること、およびアレイのその選択されたサンプルがその試験工程を通過した

製品の高品質、増強された微小化およびコストの低減を行う。本発明はこれらおよび他の必要性を満たす。

【0040】

ポリマー配列のアレイの効率よく、大規模な調製のための新規プロセスが開発されている。ここで、各アレイは、複数の相違する、公知のモノマー配列を有する、位置が異なるポリマー配列を備える。油および埃を表面から除去するために、基板ウェハを洗浄しそして剥ぎ取ること、次いでそのウェハの誘導体化によりその表面上に光保護した官能基を提供することは公知である。次いで、ポリマー配列を、表面上の複数の選択された領域を活性化照射に曝露して光不安定性な保護基をその官能基から除去、そしてその表面をモノマーを含む溶液と接触させてモノマーをその選択された領域における表面と結合させることによって、その基板ウェハの表面上に合成する。その曝露および接触工程は、複数のポリマーアレイがその基板ウェハの表面上で形成されるまで反復される。各ポリマーアレイは、異なる既知の位置にその基板ウェハの表面に結合した複数の異なるポリマー配列を含む。次いで、このウェハを、複数の個々の基板セグメントへと分割し、各セグメントは、その上に形成され、そしてカートリッジにパッケージングされた少なくとも1つのポリマーアレイを有する。このカートリッジにより、上記その上に形成されたポリマーアレイを有する基板セグメント表面がその腔と流体接触する。

【0041】

米国特許第5,843,655号（これは、その全体を全ての目的のために本明細書において参考として援用される）において、オリゴヌクレオチドアレイを試験するための方法が提供される。655特許において開示されるように、生物学的チップの品質および空間的に指向されたオリゴヌクレオチド合成によるオリゴヌクレオチドアレイの多量製造によりそれらの生産において使用された種々のパラメータの効果を試験するため、ならびに選択したアレイの試験のための方法が提供される。1つの実施態様において、その方法は、試験条件が、空間的に指向されたオリゴヌクレオチド合成によるオリゴヌクレオチドアレイ上で発生されたオリゴヌクレオチドでの構造的な特徴の出現を発生させる程度を、オリゴヌ

場合に残りのアレイをパッケージングする工程による、核酸のアレイを製造するための方法を提供する。核酸のアレイは、特に、光誘導性合成、核酸スポットティング、またはインクジェット合成によって製造され得る。基板上のこのアレイは、鋸引きまたははげきによって分離され得る。アレイ作製のプロセスにおける利点は、本発明を使用するために有用である。

【0044】

(詳細な説明)

図3は、本発明の1つの実施態様を示す全体フローチャートである。工程101において、初期の製造プロセスが製造中の物について完了される。工程103において、その物のサンプル部分が試験のために分離される。そのサンプルは、その物における任意の欠陥がそのサンプル内で検出される信頼水準を与えるに十分大きくあるべきである。工程105において、さらなる製造工程がそのサンプル物について実施される。工程107において、品質管理試験がそのサンプル物に対して実施される。工程109において、そのサンプル物が品質管理標準を通過するに適切か否かが決定される。通過する場合、残りの物は、工程111において製造プロセスが完了される。そのサンプル物が適切でなかった場合は、残りの物もまた、工程113において不合格となり、そのような物において製造プロセスを完了させる必要を回避する。

【0045】

本明細書におけるプロセスは、広範な種々の製造された物（例えば、特定の半導体デバイス）に適用可能であり、ここで、ウェハ中の1または数個のチップが適切である場合、ウェハ上の残りのチップは適切であると推定され得る。本発明の特定の適用は、米国特許第5,143,854号（これは、全ての目的のために本明細書において参考として援用される）に開示されるような核酸またはペプチドのアレイのような生物学的物質を比較する、製造デバイス中に見出される。別の実施態様において、そのアレイは、リン、触媒などのような無機材料から構成される。Schuliyら、WO 96/1878を参照のこと、これは、本明細書において参考として援用される。

【0046】

本発明の実施例は、ウェハ中で生物学的チップを試験およびパッケージングする分野にある。現在、生物学的チップは、個々のウェハ中で製造されている。例えば、単一のウェハは、4と400との間の生物学的チップを含み得る。全てのチップが分割されそしてパッケージングされた後にウェハ上の生物学的チップを試験するための方法は、例えば、McGallら、米国特許出願第08/531,155号に記載されており、これは、本明細書において参考として援用される。生物学的チップを有するウェハが製造された後、個々のチップをそのウェハから分割し、そして選択されたアレイ（例えば、2～5アレイ）を適切なカートリッジに配置する。これらの選択したアレイ（または「チップ」）が試験される。特定のウェハ由来の試験したチップが指定した品質管理標準を満たす場合、そのウェハ上の全てのチップは受け入れられ、そして残りのアレイがプロセスされる。しかし、試験したチップが適切な品質管理標準を満たさなかった場合は、試験されたウェハ由来の全てのチップは受け入れられ、そして残りのアレイがプロセスされる。結果として、その生物学的チップをパッケージングするために必要な資源は、その品質管理標準を満たしたチップのために保存される。介在する品質管理工程は、任意の主要な下流のプロセス工程の直ぐ前であり得る。従って、さらにプロセスを受けるチップは、さらなるプロセス工程の前に適切な品質管理標準を満たしているという保証がなされる。

【0047】

本発明の別の実施例は、チップ合成の前のクローニングおよび基板の調製の分野にある。この場合、特定の試験ビヒクルの合成または基板の他の何らかの分析または機能の試験は、残りのウェハにおいて通常のアレイ合成を行う前になされる。より詳細には、基質表面がまず調製され、そしてキシレン（xylene）でコーティングされる。これらの2つの初期工程の後、その基板は、試験されそして欠陥があると、試験基板が供給された基板のバッチ全体が廃棄される。

【0048】

図4は、核酸アレイの製造において使用された本発明の特定の実施形態を示す。示されるように、この場合、基板201が領域203の活性化のために光に曝露される。このプロセスは、他の曝露された領域および核酸構築ブロックでその

基板上で多重の同一アレイ205（a）、205（b）、205（c）および205（d）を形成するように反復される。その光誘導性作製プロセスは本明細書において例示として記載されているが、インクジェット作製、スポッティングおよび他の技術のような他のプロセスもいくつかの実施形態において有用であり得る。

【0049】

その後、基板を、例えば、鋳引きまたははげきによって個々のチップまたはアレイ205（a）、205（b）、205（c）および205（d）へと分割する。1または数個のアレイ、例えば、205（a）および205（b）は、PCT US 96,11147（これは、本明細書において参考として援用される）に記載されるようなチップホルダにパッケージングされる。このパッケージングされたアレイは、品質について試験され、そしてそれらがそのウェハが受容可能であることを示す場合は、残りのチップ205（c）および205（d）が、パッケージングされたアレイ207を形成するようにパッケージングされる。

【0050】

上記の記載は、例示を意図し、そして制限することを意図しないことが理解されるべきである。従って、本発明の範囲は、上記の記載を参照するのではなく、添付の特許請求の範囲およびその等価物の全範囲を参照して決定すべきである。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、アレイ作製のための全体のシステムおよび操作方法を示す。

【図2A】

図2Aは、図1のシステムに含まれるソフトウェアの操作全体図である。

【図2B】

図2Bは、チップ上のプローブ結合を概念的に示す。

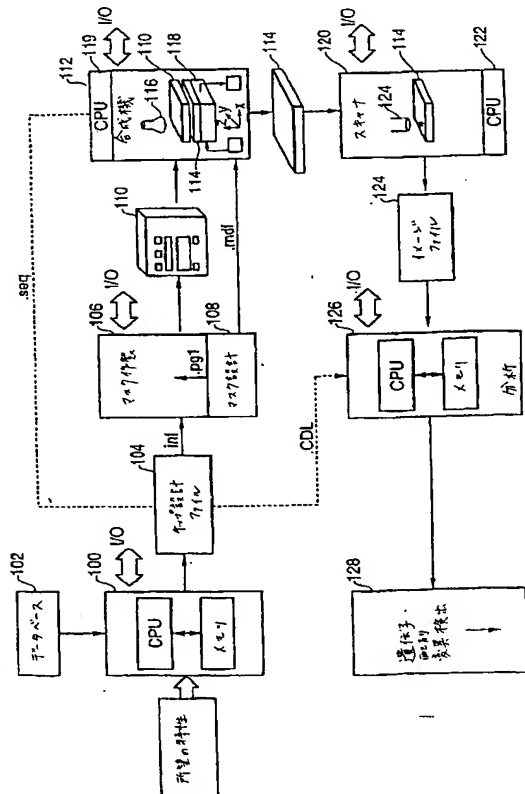
【図3】

図3は、本発明についての全体フローチャートである。

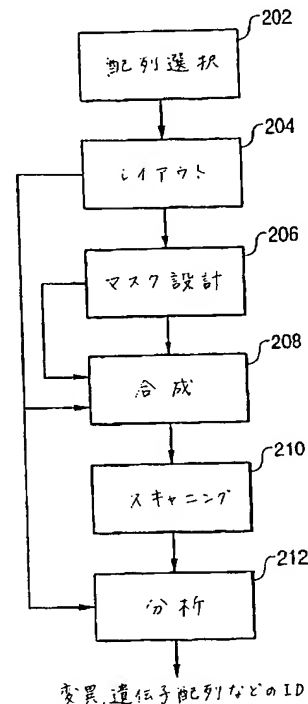
【図4】

図4は、核酸プローブアレイの製造において使用される本発明の実施例である

【図1】

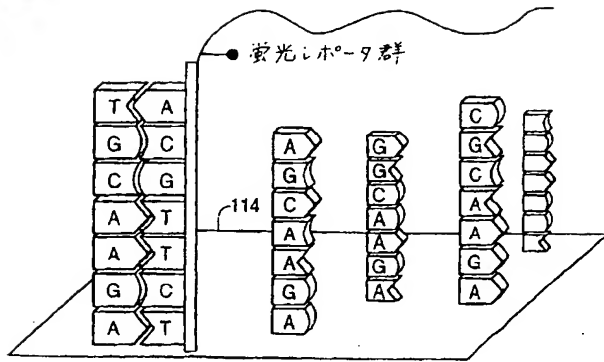


【図2A】

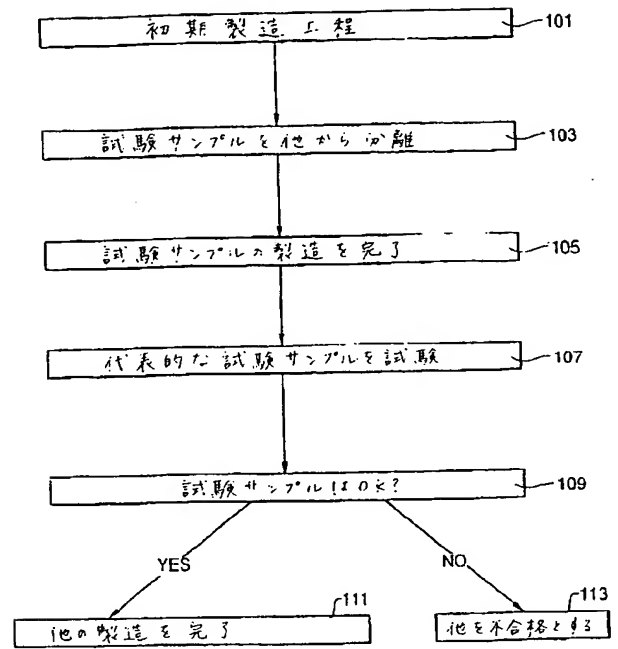


BEST AVAILABLE COPY

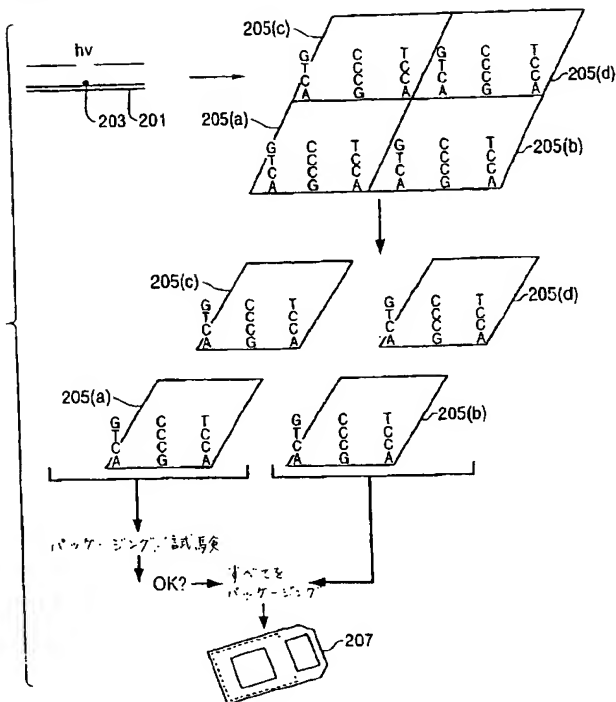
【図2B】



【図3】



【図4】



BEST AVAILABLE COPY

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZW

(72)発明者 ゴールドバーグ、 マーティン ジェイ。
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 95070,
 サラトガ、 スカリー アベニュー
 12325

Fターム(参考) 3E038 AA05 BA20 CC01
 4B024 AA11 CA01 CA09 CA11 HA12
 4B029 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08
 4H045 AA20 BA10 EA50

【要約の続き】

をさらに提供する。核酸のアレイは、とりわけ、光誘導性合成、核酸スポットティングまたはインクジェット合成により製造され得る。その基板上的アレイは、鋸引きまたははげきによって分離される。アレイ作製のプロセスにおける利点は、請求される本発明の方法を使用するために有用である。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No
PCT/US 99/02518A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 B01J19/00 G07C3/14 C07H21/00 C07K1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 379 259 A (ANDREW G. VARADI & WALID H. MAGHRIBI) 5 April 1983 see abstract see figure 2	1,2,5
X	KLAUS FELDMANN & JÜRGEN STURM: "CLOSED LOOP QUALITY CONTROL IN PRINTED CIRCUIT ASSEMBLY" IEEE TRANSACTIONS ON COMPONENTS, PACKAGING AND MANUFACTURING TECHNOLOGY: PART A, vol. 17, no. 2, 1 June 1994, pages 270-276, XP000455263 see page 271, left-hand column, last paragraph - page 272, left-hand column, paragraph 3 see figure 3	1,2,5

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 June 1999

Date of mailing of the international search report

01.07.99

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 apo nl.
Fax (+31-70) 340-3010

Authorized officer

Stevnsborg, N

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

page 1 of 2

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 99/02518

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	L. A. COLOM ET AL.: "defect data analysis in integrated circuit manufacturing" IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN., vol. 18, no. 4, September 1975, pages 1059-1060, XP002105569 NEW YORK US see the whole document ---	1
P,X A	GB 2 319 838 A (HEWLETT-PACKARD COMPANY, INC.) 3 June 1998 see the whole document ---	1-4 5-24
P,X A	US 5 843 655 A (GLENN MCGALL) 1 December 1998 cited in the application see the whole document A A A EP 0 695 941 A (AFFYMAX TECHNOLOGIES N.V.) 7 February 1996 ----- A M. J. O'DONNELL-MALONEY ET AL.: "The development of microfabricated arrays for DNA sequencing and analysis" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, no. 10, 1 October 1996, page 401-407 XP004035731 see page 406, left-hand column, paragraph 3 -----	1-5 6-24

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

page 2 of 2

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 99/02518**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-24 (all in part)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1998)

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 99/02518

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4379259	A	05-04-1983	NONE	
GB 2319838	A	03-06-1998	DE 19740263 A JP 10185923 A	07-05-1998 14-07-1998
US 5843655	A	01-12-1998	NONE	
EP 695941	A	07-02-1996	AU 2943695 A EP 0764214 A JP 8166387 A JP 10505410 T WO 9533846 A	04-01-1996 26-03-1997 25-06-1996 26-05-1998 14-12-1995

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

BEST AVAILABLE COPY